

抗溴氰菊酯家蝇在不同用药方式下的 敏感性变化及其机制

邱立红 李学锋 王成菊 张文吉

(中国农业大学基础学院应用化学系, 北京 100094)

摘要 以具有极高抗水平的抗溴氰菊酯家蝇 *Musca domestica vicina* Macquart DR0 品系为试虫, 模拟田间几种常见的用药方式(混用、轮用、使用增效剂), 在室内进行平行汰选, 并以不用药和继续用原药汰选的为比较, 研究试虫在这几种用药方式下的敏感性变化及其变化机制。抗性家蝇用辛溴混剂、辛硫磷以及溴氰菊酯+SV₁ 汰选后, 在 F₁₆ (F₁₇) 代以前, 对溴氰菊酯及汰选药剂的抗性发展相对都比较缓慢; F₁₆ (F₁₇) 代以后, 用溴氰菊酯+SV₁ 汰选的家蝇对溴氰菊酯的敏感性迅速下降, 抗性发展很快。家蝇对溴氰菊酯的敏感性变化与药剂中溴氰菊酯的选择压有关。生化分析结果表明, 在不同用药方式汰选下, 家蝇体内酯酶、多功能氧化酶、谷胱甘肽-S-转移酶、乙酰胆碱酯酶的酶活或特性发生了不同的变化。

关键词 家蝇, 抗性, 溴氰菊酯, 敏感性变化, 用药方式

化学防治至今仍是全世界控制农业害虫、卫生害虫的主要途径, 然而随着杀虫剂的广泛使用, 害虫的抗药性问题日趋严重。就目前实际情况看, 生产上所面临的防治对象, 特别是危害严重的农业害虫和卫生害虫如棉铃虫 *Helicoverpa armigera*、棉蚜 *Aphis gossypii*、棉叶螨 *Tetranychus telarius*、小菜蛾 *Plutella xylostella*、斑潜蝇 *Liriomyza* spp.、家蝇 *Musca domestica*、库蚊 *Culex*、褐稻虱 *Nilaparvata lugens* 等^[1], 大都已经对一种或几种杀虫剂产生了不同程度的抗性。据 Brastten (1989) 报道^[2], 仅至 80 年代中期, 产生抗性的害虫种类已超过 500 余种, 抗性涉及到几乎所有的农药, 而且抗性种类和倍数还在呈不断上升之势。如何科学用药, 以防治对某种药剂已产生抗性的害虫, 是害虫防治及杀虫剂应用中急待解决的问题之一。

杀虫剂的混用、轮用、使用增效剂等是目前推荐使用的、用于防止或延缓害虫抗药性的几种常见用药方式^[3~5]。但这些方法的建立是以抗性基因频率较低的敏感试虫为前提的, 对于已有一定抗性水平甚至高抗的害虫种群, 这种用药方式是否还能起到延缓抗性的作用? 这方面的工作至今未见研究报道。作者以对拟除虫菊酯已有极高抗水平的家蝇 *Musca domestica vicina* Macquart 为试虫, 模拟田间几种常用于延缓害虫抗性的用药方式, 逐代选育试虫, 并以继续用原药和不用药处理为比较, 观察不同用药方式处理后, 家蝇对原已产生抗性的药剂和新汰选药剂的敏感性变化, 系统比较这几种用药方式在治理抗性害虫方面的优劣, 以指导田间实际应用; 同时, 对汰选后的各家蝇抗性种群进行离体酶系测定, 了解家蝇敏感性发生

变化的生化机制，以期为抗性种群的治理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试家蝇

敏感品系 (S)：为室内正常品系，在无药剂接触条件下长期饲养；抗溴氰菊酯品系 (DR0)：为敏感品系家蝇用溴氰菊酯汰选培育而得，抗性倍数 (R/S) 为1 619，简称抗溴品系家蝇。该品系将作为母系家蝇进行一系列的汰选研究；DR1、DR2、DR3、DR4、DR5 种群：系抗溴品系家蝇分别用①辛溴混剂，②溴氰菊酯 + SV₁，③辛硫磷，④溴氰菊酯，⑤不用药等 5 种方式汰选而得的抗性种群。

1.2 供试药剂

溴氰菊酯：98%原粉，法国罗素·优克福公司；辛硫磷：85%原油，天津农药厂提供；增效磷 (SV₁)：79%原油，山东乐陵农药厂提供；辛溴混剂：为辛硫磷和溴氰菊酯按 100:1 混配的增效混剂；溴氰菊酯 + SV₁：为溴氰菊酯加增效磷 (SV₁) 按 1:5 配制而得。

1.3 抗性汰选方法

以抗溴品系家蝇为母本，在每一代家蝇全部羽化后 1~2 天进行汰选。处理剂量选在 70%左右死亡率，雌雄分开处理，将药液用毛细管点滴器滴于家蝇前胸背部，24 h 后，将成活个体继续饲养，并繁殖下一代。

1.4 毒力测定方法

取羽化后 3~5 天雌蝇，麻醉后用毛细管点滴器将系列浓度药液点滴于前胸背部，每个浓度处理 60 头，重复 3 次，24 h 后检查死亡率，计算 LD₅₀值等。

1.5 离体酶系测定方法

1.5.1 酯酶酶活及 V_{\max} 、 K_m 值测定：取羽化后 3~5 天雌蝇，用冰冷的 0.04 mol/L pH 7.0 磷酸缓冲液在冰水浴条件下整体匀浆，匀浆液于 4℃，5 000 r/min 离心 15 min，取上清液作酶源。

酶活测定参照 Van Asperen (1962) 方法^[6]。以 α -乙酸萘酯 (α -NA) 为底物配制 0.03 mol/L 的丙酮贮备液，于冰箱中备用。使用时用 0.04 mol/L pH 7.0 磷酸缓冲液稀释至 3×10^{-4} mol/L (测定羧酸酯酶时还加入 3×10^{-4} mol/L 毒扁豆碱)。取 1 mL 工作酶液加入到 5 mL 3×10^{-4} mol/L α -NA 溶液中，在 30℃ 恒温水浴中振摇 30 min 后加入 1 mL 显色剂，15 min 后测定其 600 nm 光吸收值。以不同浓度的 α -萘酚作标准曲线。

羧酸酯酶米氏常数 K_m 值及最大反应速率 V_{\max} 值的测定是将 α -NA (含毒扁豆碱) 用 0.04 mol/L pH 7.0 磷酸缓冲液稀释成梯度浓度，加入与酶活测定相同的酶源，测定不同底物浓度的羧酸酯酶酶活，用双倒数作图法求出 K_m 及 V_{\max} 。

1.5.2 多功能氧化酶-O-脱甲基活力测定：参照 Hansen 和 Hodgson (1971) 方法^[7]并略加以改进。取 3~5 日龄家蝇，用液氮快速冷冻，取雌蝇腹部，用冰冷的 0.2 mol/L pH 7.8 磷酸

缓冲液在冰水浴条件下匀浆。匀浆液于 0℃ 12 000 r/min 离心 15 min，取上清液为酶源。反应体系中含 1 mL 酶液、2.5 mg NADPH、10 μL 0.1 mol/L 对硝基苯甲醚、2 mL 缓冲液，于 34℃ 恒温水浴振摇 30 min 后，加入 1 mL 1 mol/L HCl 终止反应。用 5 mL 乙醚萃取，再用 3 mL 0.5 mol/L NaOH 萃取。测定 NaOH 溶液层的 400 nm 光吸收值。以不加 NADPH 为对照。根据对硝基酚 NaOH 溶液在 400 nm 的摩尔吸光系数 $2.008 \times 10^4 \text{ (mol/L)}^{-1} \text{cm}^{-1}$ 计算产物含量。

1.5.3 谷胱甘肽 S 转移酶活力测定：参照 Oppenoorth (1977, 1979) 方法^[8,9]并略加以改进。取 3~5 日龄雌蝇，在冰冷的 0.1 mol/L pH6.5 磷酸缓冲液中匀浆，常温 3 000 r/min 离心 15 min，上清液为酶源。以 CDNB 为底物，取 1 mL 酶液与 3 mL 反应混合液混合，于 27℃ 恒温振荡 30 min 后测定其 350 nm 光吸收值。以不含酶液为对照。根据 CDNB 的摩尔吸光系数 $9.5 \text{ (mmol/L)}^{-1} \text{cm}^{-1}$ 计算酶活力。

1.5.4 乙酰胆碱酯酶活力及 V_{max} 、 K_{m} 值测定：采用 Gorun 等 (1978) 的方法^[10]。

1.5.5 酶源蛋白质含量测定：用考马斯亮蓝染色法，以牛血清白蛋白 (BSA) 为标准蛋白。

2 结果与分析

2.1 抗溴品系家蝇在不同用药方式汰选下对溴氰菊酯的敏感性变化

对溴氰菊酯具有极高抗水平的家蝇，在不同用药方式汰选下对溴氰菊酯的敏感性变化不同 (图 1)。以使用辛溴混剂、使用增效剂 (SV₁)、换用辛硫磷三种方式汰选得到的抗性种群

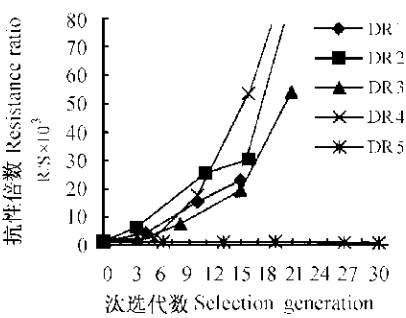


图 1 抗溴品系家蝇在不同用药方式汰选下对溴氰菊酯的敏感性变化

Fig. 1 The changes of susceptibility to deltamethrin of DR0 housefly strain under different insecticide applications

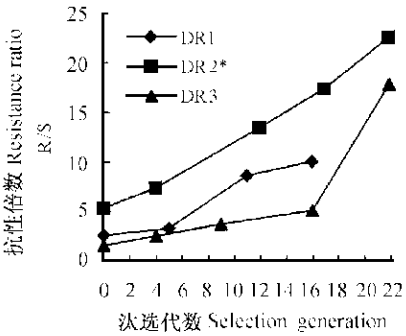


图 2 抗溴品系家蝇换用不同药剂汰选后对汰选药剂的敏感性变化

Fig. 2 The changes of susceptibility to selecting insecticides of DR0 housefly strain under different insecticide applications * 抗性倍数(R/S) × 10²

(分别为 DR1、DR2、DR3)，在 F₁₆ (或 F₁₇) 代以前对溴氰菊酯的抗性发展均比较缓慢，抗性倍数均仅提高了十多倍，与继续用溴氰菊酯汰选种群 (DR4) 及停止用药种群 (DR5) 相比，抗性发展快慢顺序依次为：DR4 > DR2 > DR1 > DR3 > DR5。从中可以看出各种群对溴氰菊酯的抗性发展速度与药剂中溴氰菊酯的选择压有关：停止用药后家蝇对溴氰菊酯的敏感性得到恢复，而换用无交互抗性的药剂辛硫磷汰选的 DR3 种则是其余四种汰选方式中抗性发展最慢的，换用辛溴混剂 (溴氰菊酯占 1/100) 汰选的种群 DR1，抗性发展速度又低于由溴氰菊酯 + SV₁ (溴氰菊酯占 1/5) 汰选而得到的种群 DR2，继续用溴氰菊酯汰选的种群 DR4

抗性发展则最快。 F_{17} 代以后,用溴氰菊酯+ SV_1 汰选的DR2种群对溴氰菊酯的抗性迅速上升,仅汰选五代(到 F_{22} 代)抗性倍数就增长了19倍,增长速度甚至超过了用溴氰菊酯继续汰选的DR4种群;DR3种群在 F_{16} 代以后对溴氰菊酯的抗性发展速度也较 F_{16} 代之前的快,但相对DR2、DR4种群慢得多,到 F_{22} 代时,抗性倍数仅增长将近3倍。由此可见,各种群对溴氰菊酯的抗性发展速度与药剂中溴氰菊酯的选择压有关,选择压越大,抗性发展越快。

2.2 抗溴品系家蝇换用不同药剂汰选后对汰选药剂的敏感性变化

通过比较可以看出(图2),抗溴氰菊酯家蝇换用辛溴混剂、溴氰菊酯+ SV_1 、以及辛硫磷汰选后,对汰选药剂的敏感性逐渐下降,抗性逐渐上升。但汰选药剂不同,抗性发展速度不同:用辛硫磷和辛溴混剂汰选的抗性种群(DR3、DR1),在 F_{16} 代以前抗性发展较缓慢,抗性倍数只分别提高3.15倍和3.77倍, F_{16} 代以后,DR3种群的抗性发展速度加快,仅到 F_{22} 代,抗性倍数又提高了3.59倍;而用溴氰菊酯+ SV_1 汰选的抗性种群DR2,对溴氰菊酯+ SV_1 的抗性发展则一开始就保持较快的势头。

2.3 离体酶系测定结果

2.3.1 全酯酶及羧酸酯酶活力:不同抗性种群的非特异性 α -NA酯酶及 α -NA羧酸酯酶活力明显高于敏感品系(表1);同时不同种群的非特异性的 α -NA酯酶也比本种群的 α -NA羧酸酯酶活力高,但与敏感品系相比之后, α -NA羧酸酯酶的酶活指数反而比非特异性 α -NA酯酶的高,说明羧酸酯酶在家蝇的抗药性中起着更为重要的作用。不同抗性种群中,用辛溴混剂处理得到的DR1的非特异性 α -NA酯酶活力均低于在其他种群的,其 α -NA羧酸酯酶活力也仅高于停止用药选育后的DR5种群,这与其敏感性降低较缓慢,抗性水平较低相一致。

2.3.2 羧酸酯酶米氏常数(K_m)及最大反应速率常数(V_{max}):除停止用药选育的DR5,各抗性种群的 K_m 值均显著下降,说明羧酸酯酶发生了质的变化,对底物的亲和力显著增强;各汰选种群的 V_{max} 值则较敏感品系的明显提高(表2)。其中DR2的 V_{max} 及酶活(表1)均最高,而 K_m 值则较小,说明用溴氰菊酯加增效磷 SV_1 处理后,会使家蝇羧酸酯酶活力显著提高,由此使家蝇的解毒代谢能力提高,这和DR2种群对原用药剂和新汰选药剂抗性水平较高相一致。

2.3.3 多功能氧化酶-O-脱甲基活力:MFO是一种氧化酶系,具有催化各种类型反应的能力,能将多种进入昆虫体内的外源物质进行氧化、代谢、解毒,使昆虫对药剂的敏感性降低。已有许多研究表明,MFO活性升高引起了家蝇、棉铃虫、小菜蛾等害虫对有机磷及拟除虫菊酯类杀虫药剂的抗药性^[11~15]。

本实验结果表明(表3),各抗性种群的多功能氧化酶-O-脱甲基活力均明显高于敏感品系家蝇,表明MFO是造成抗溴品系家蝇用不同药剂汰选后敏感性没有恢复的主要原因之一。

2.3.4 谷胱甘肽-S-转移酶(GST)活力:各抗性种群谷胱甘肽-S-转移酶活力与敏感品系的相比均略有提高(表3),但最大不超过2倍。值得指出的是,各种群GST的酶活指数大小次序为DR4>DR2>DR3>DR1>DR5,这与抗性种群对药剂的敏感性降低快慢相一致,说明GST与各种群的抗药性可能有一定的关系。

表 1 不同家蝇非特异性 α -NA 酯酶及 α -NA 羧酸酯酶活力

Table 1 Activities of esterase and carboxylesterase toward α -NA in different housefly strains

家蝇品系 Housefly strain	非特异性 α -NA 酯酶 Nonspecific-esterase		α -NA 羧酸酯酶 Carboxylesterase	
	酶活力 Enzyme activity $\mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{mg}\cdot\text{min})$	指数 Ratio R/S	酶活力 Enzyme activity $\mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{mg}\cdot\text{min})$	指数 Ratio R/S
S	8.47 0.051	1	4.81 0.40	1
DR1	13.53 0.089	1.60	12.01 0.086	2.50
DR2	3.30 2.47	2.75	20.16 2.21	4.19
DR3	18.13 0.16	2.14	16.85 0.88	3.50
DR4	27.39 0.15	3.23	19.49 0.066	4.05
DR5	18.00 1.54	2.13	10.49 0.68	2.18

注: 1. 实验数据为 5 次实验统计结果 (平均值 | 标准差); 2. DR1、DR2、DR3、DR4 种群均处于 F_{22} 代, DR5 种群处于 F_{32} 代。以下同

Notes: 1. Values are mean | SE of 5 determinations; 2. DR1, DR2, DR3, DR4 strains were all in generation F_{22} and DR5 strain was in generation F_{32} when determined. The data followed were all got from the same generation

表 2 不同家蝇 α -NA 羧酸酯酶对 α -NA 的 K_m 及 V_{\max} 值

Table 2 K_m and V_{\max} of carboxylesterase toward α -NA in different housefly strains

家蝇品系 Housefly strain	K_m ($\times 10^{-4} \text{ mol/L}$)	K_m 指数 Ratio R/S	V_{\max} $\mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{mg}\cdot\text{min})$	V_{\max} 指数 Ratio R/S
S	2.51 0.014	1	4.00 0.064	1
DR1	1.05 0.020	0.4183	12.01 1.08	3.00
DR2	0.76 0.042	0.3028	20.79 2.06	5.20
DR3	0.92 0.050	0.3665	15.12 0.44	3.78
DR4	0.70 0.022	0.2789	20.16 0.40	5.04
DR5	1.73 0.21	0.6892	6.36 0.30	1.59

注: 实验数据为 5 次实验统计结果 (平均值 | 标准差) Note: Values are mean | SE of 5 determinations

表 3 不同家蝇多功能氧化酶及谷胱甘肽-S-转移酶活力

Table 3 Activities of MFO and GST in different housefly strains

家蝇品系 Housefly strain	多功能氧化酶 MFO		谷胱甘肽-S-转移酶 GST	
	酶活力 Enzyme activity $\mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{mg}\cdot 30 \text{ min})$	指数 Ratio R/S	酶活力 Enzyme activity $\text{mmol}/(\text{L}\cdot\text{mg}\cdot\text{min})$	指数 Ratio R/S
S	2.86 0.08	1	17.13 0.60	1
DR1	6.89 0.04	2.41	28.74 0.37	1.68
DR2	6.28 0.36	2.20	29.44 0.20	1.72
DR3	8.92 0.61	3.12	28.89 0.61	1.69
DR4	7.68 0.38	2.69	33.26 0.64	1.94
DR5	4.55 0.35	1.59	20.15 0.18	1.18

注: 实验数据为 4 次实验统计结果 (平均值 | 标准差) Note: Values are mean | SE of 4 determinations

2.3.5 乙酰胆碱酯酶(AChE)活力及 K_m 、 V_{max} 值: K_m 是酶反应的特征性常数, K_m 值越小, 表明酶对底物的亲和性越强。由抗溴家蝇处理得到的各抗性种群, 其 AChE 的 K_m 值为 1.26~1.67 (表 4), 其中 DR2、DR4、DR5 的 K_m 比敏感品系的低, 而 DR1、DR3 的则比敏感品系的高, 说明用不同用药方式处理后, 酶的结构可能发生了不同的变化; 各抗性种群 AChE 酶活及最大反应速率 V_{max} 都比敏感家蝇的高, 说明抗性家蝇体内 AChE 酶量增大、酶活性增强, 特别是 DR1 和 DR3 种群的更为突出。结合 K_m 值的变化趋势, 这种现象很可能与这两个种群均由含辛硫磷的药剂处理有关。

表 4 不同家蝇乙酰胆碱酯酶(AChE)活力及 K_m 、 V_{max} 值
Table 4 K_m 、 V_{max} and activities of AChE in different housefly strains

家蝇品系 Housefly strain	酶活力 Enzyme activity mmol/(L·mg·min)	酶活指数 Ratio R/S	K_m ($\times 10^{-3}$ mol/L)	K_m 指数 Ratio R/S	V_{max} mmol/(L·mg·min)	V_{max} 指数 Ratio R/S
S	0.16 0.057	1	1.53 0.12	1	0.22 0.01	1
DR1	0.99 0.14	6.19	1.67 0.43	1.09	1.01 0.014	4.59
DR2	0.66 0.17	4.13	1.43 0.099	0.93	0.52 0.014	2.36
DR3	1.21 0.099	7.56	1.63 0.099	1.07	1.46 0.11	6.64
DR4	0.39 0.028	2.44	1.27 0.11	0.83	0.40 0.00	1.82
DR5	0.38 0.085	2.38	1.26 0.078	0.82	0.68 0.17	3.09

注: 实验数据为 2 次实验统计结果 (平均值 | 标准差) Note: Values are mean | SE of 2 determinations

3 讨论

已有研究表明, 混用和轮用能延缓抗性初始基因频率较低的害虫的抗药性发展^[3,4]。本实验结果表明, 对于已具有极高抗性水平的抗溴品系家蝇, 换用辛溴混剂、辛硫磷以及溴氰菊酯+SV₁ 处理后, 换用药剂在初期效果都比较好, 并有一定延缓抗性发展的作用; 而后抗性迅速发展。这与生产上换用不同药剂防治抗性害虫时, 开始效果很好, 但很快反映效果下降的实际是一致的。

但是换用这三种用药方式后, 却不能使家蝇对原药剂、即溴氰菊酯的敏感性完全恢复。F₁₆ (或 F₁₇) 代之前, 各种群对溴氰菊酯的抗性发展相对都较缓慢, 但此后抗性会迅速上升。分析表明, 家蝇对溴氰菊酯的抗性发展和汰选中溴氰菊酯的选择压有关, 汰选药剂中溴氰菊酯所占比例越大, 选择压越大, 抗性发展就越快。相比较而言, 对于具有极高抗性水平的家蝇, 换用无交互抗性的药剂 (辛硫磷) 防治, 略优于用含有原药剂的复配制剂 (辛溴混剂), 而后者又优于原药加增效剂 (溴氰菊酯+SV₁) 的处理。

理论上, 药剂的选择压消失后, 害虫对该药剂的敏感性会逐渐恢复^[16], 这也是换用或轮用杀虫剂的依据。陈文美 (1990)^[17]曾将抗敌百虫的淡色库蚊品系 (RD 品系, R/S 为 260 倍), 换用溴氰菊酯继续选育, 53 代后该品系对敌百虫的敏感性恢复约 10 倍。但是对于具有极高抗性水平的抗溴氰菊酯家蝇 (R/S 为 1619 倍), 换用辛硫磷汰选后, 对溴氰菊酯的敏感性并没有恢复, 而是有所下降, 抗性不断上升, 这可能与家蝇的抗性机制有关。处于极高抗

性水平的家蝇，其抗性往往不是单因子的，而是由多种抗性机制共同作用的结果，换用药剂处理后，新药剂可能对一些主要抗性机制不再有选择作用，但是对另外一些原来不占优势的抗性机制仍有选择作用，因此使家蝇对原药剂的敏感性无法恢复。使用辛溴混剂汰选后，家蝇对溴氰菊酯的敏感性也没有恢复，除了上述原因之外，混剂中含有的溴氰菊酯对家蝇仍有选择作用也是原因之一。

增效剂是昆虫体内一些解毒酶的抑制剂，与杀虫剂混用后能够使药效大为提高，因此是抗性治理中一种常用的克服抗性的方法。但也有研究表明，如果不加节制的连续大量使用增效剂，害虫也会对增效剂产生抗性^[18]。Chen 等^[19]曾用氰戊菊酯 + PBO 连续选育从田间采集的小菜蛾相对敏感种群，汰选 8 代后，小菜蛾对氰戊菊酯 + PBO 仅产生 3 倍的抗性，但到第 10 代时，抗性突然猛增到 22 倍，两代间抗性净增 19 倍。本实验结果表明，对于极高抗的家蝇品系，用溴氰菊酯 + SV_1 汰选一段时间后，家蝇对溴氰菊酯 + SV_1 的抗性持续上升；同时，对溴氰菊酯的抗性也不断上升，尽管 F_{17} 代以前抗性发展较缓慢， F_{17} 代以后抗性迅速上升，发展速度甚至超过了用溴氰菊酯继续汰选的种群，这可能是因为溴氰菊酯 + SV_1 中的溴氰菊酯对家蝇仍有很大的选择压的缘故。因此，在抗性治理中使用增效剂防治抗性害虫时，除了要注意适度、适时、合理，避免害虫对增效剂产生抗性外，还要注意尽量避免原已产生抗性的药剂与增效剂（或其它杀虫剂）的混配使用，以防止由于原药剂的继续选择而使抗性迅速上升。

离体酶系测定结果表明：生化机制的改变是各抗性种群对药剂敏感性变化不同的根本原因。以原药剂 + SV_1 汰选得到的 DR2 种群的非特异性酯酶、羧酸酯酶和谷胱甘肽-S-转移酶活力，都比用另外两种处理方式得到的抗性种群的高，其羧酸酯酶的酶活、酶量甚至还超过了用溴氰菊酯继续汰选的 DR4 种群。根据汰选结果，该种群对原药剂（溴氰菊酯）的抗性发展最快，抗性水平也最高，说明以原药剂加增效剂（ SV_1 ）这种用药方式处理家蝇，使家蝇体内的羧酸酯酶、非特异性酯酶、谷胱甘肽-S-转移酶活力明显升高，而酶活力的升高必然伴随其解毒代谢能力的增强，因而使家蝇对原药剂产生了更高的抗性。以辛溴混剂及辛硫磷处理的 DR1 和 DR3 种群，其非特异性酯酶、羧酸酯酶、谷胱甘肽-S-转移酶的酶活力则相对较低，这和该二种群对原药剂和新汰选药剂的抗性发展较缓慢，抗性水平较低相一致。

通过比较还发现，在不同的用药方式下，抗溴氰菊酯家蝇离体酶系的变化趋势不同。尽管 DR1、DR3 种群的非特异性酯酶、羧酸酯酶和谷胱甘肽-S-转移酶活力比 DR2 种群的低，它们的多功能氧化酶-O-脱甲基活力及乙酰胆碱酯酶的酶活、 K_m 、 V_{max} 值却又略高于 DR2 种群的。这可能和汰选药剂中起主要毒力作用的成份有关。已有研究表明，乙酰胆碱酯酶敏感性降低是引起害虫对有机磷产生抗性的重要因子之一^[20,21]；酯酶活力增高在抗溴氰菊酯品系家蝇的抗性机制占主要优势^[22]。张文吉等（1995）研究混剂对家蝇抗性发展的影响^[23]，结果表明，家蝇对溴氰菊酯的抗性发展与酯酶活力升高有关，对辛硫磷的抗性发展与多功能氧化酶活力升高及乙酰胆碱酯酶敏感度降低有关，两种药剂混用后，仍然保持各自的选择方向。用不同配比混剂选育的家蝇，其体内酶系的变化随着各单剂占的比例而变化，起主要毒力作用的单剂决定着抗性选择的主方向。

综合上述研究结果可以认为，抗溴氰菊酯家蝇在不同用药方式下，抗性机制发生了不同的变化。换用含辛硫磷为主的辛溴混剂或辛硫磷处理的抗性家蝇（DR1、DR3），主要抗性机

制逐渐向多功能氧化酶活力升高及乙酰胆碱酯酶敏感性降低发展; 换用含溴氰菊酯为主的溴氰菊酯 + SV_1 处理的家蝇 (DR2), 主要抗性机制则仍以酯酶活力升高及对底物亲和力增强为主。这也是各抗性种群敏感性变化或抗性水平不同的主要原因。

参 考 文 献 (References)

- 1 唐振华. 昆虫抗药性及其治理. 北京: 农业出版社, 1993, 9~41
- 2 Brastten L B. Insecticide resistance research and management. Pestic. Sci., 1989, 26: 329~332
- 3 Georgiou G P. Insecticide resistance and prospects for its management. Res. Rev., 1980, 76: 131~145
- 4 Brown T M. Countermeasures for insecticide resistance. Bull. Entomol. Soc. Amer., 1981, 27: 198~201
- 5 Brastten L B *et al.* Insecticide resistance: challenge to pest management and basic research. Science, 1986, 231: 1 255~1 260
- 6 Van Asperen K. A study of housefly esterase by means of a sensitive colorimetric method. J. Insect Physiol., 1962, 8: 401~416
- 7 Hanson L G *et al.* Biochemical characteristics of insect microsomes N- and O-demethylation. Biochem. Pharmac., 1971, 20: 1 569~1 573
- 8 Oppenorth F J *et al.* Insecticide acetylcholinesterase, high glutathione-S-transferase, and hydrolytic activity as resistance factors in a tetrachlorvinphos-resistant strain of housefly. Pestic. Biochem. Physiol., 1977, 7: 34~47
- 9 Oppenorth F J *et al.* Glutathione-S-transferase and hydrolytic activity in a tetrachlorvinphos-resistant strain of housefly and their influence on resistance. Pestic. Biochem. Physiol., 1979, 11: 176~188
- 10 Gorun V *et al.* Modified Ellman procedure for assay of cholinesterase in crude enzymetic preparation. Analytical Biochem., 1978, 86: 324~326
- 11 Scott J G *et al.* Biochemical changes in cytochrome-P-450 monooxygenase of seven insecticide resistant housefly (*Musca domestica* L.) strains. Pestic. Biochem. Physiol., 1990, 36 (2): 127
- 12 Glenn D C *et al.* Resistance to pyrethroids in *Helicoverpa armigera* from corn: adult resistance, larval resistance and fitness effects. J. Econ. Entomol., 1994, 87 (5): 1 165~1 171
- 13 Hung C F *et al.* Microsomal monooxygenase in diamondback moth larvae resistant to fenvalerate and piperonyl butoxide. Pestic. Biochem. Physiol., 1989, 33: 168
- 14 周成理等. 小菜蛾幼虫对拟除虫菊酯杀虫剂的抗药性与多功能氧化酶的关系. 植物保护学报, 1993, 20 (1): 91~95
- 15 Forrester N W *et al.* Management of pyrethroid and endosulfan resistance in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia. Bull. Entomol. Res., 1993, Supplement NO. 1
- 16 张宗炳等. 害虫防治: 策略与方法. 北京: 科学出版社, 1990
- 17 陈文美. 用溴氰菊酯选育抗敌百虫淡色库蚊的研究. 昆虫学报, 1990, 33 (1): 14~19
- 18 Shaw A J. 澳大利亚 1990~1991 年棉花棉铃虫杀虫剂科学治理措施. (张文君 摘译), 农药科学与管理, 1991, 3: 26~30
- 19 Chen J S *et al.* Resistance of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) to a combination of fenvalerate and piperonyl butoxide. J. Econ. Entomol., 1986, 79: 22~30
- 20 袁家珪等. 家蝇中乙酰胆碱酯酶、羧酸酯酶和多功能氧化酶活性与抗药性的关系. 昆虫学报, 1987, 30 (2): 126~131
- 21 李月明等. 乙酰胆碱酯酶敏感性的变化与家蝇抗药性的关系. 昆虫学报, 1987, 30 (3): 239~245
- 22 孙耘芹等. 家蝇对拟除虫菊酯农药的抗性机制. 昆虫学报, 1990, 33 (3): 265~273
- 23 张文吉等. 辛硫磷和溴氰菊酯混剂对抗性发展的影响. 昆虫学报, 1995, 38 (1): 25~29

CHANGES OF SUSCEPTIBILITY OF RESISTANT HOUSEFLY TO PESTICIDES AND IT'S MECHANISMS UNDER DIFFERENT INSECTICIDE APPLICATIONS

Qiu Lihong Li Xuefeng Wang Chengju Zhang Wenji

(Department of Applied Chemistry, China Agricultural University, Beijing 100094)

Abstract A housefly (*Musca domestica vicina* Macquart) strain (DR0) possessing high level resistance to deltamethrin was selected under different insecticide applications in the laboratory, involving alternating insecticide (phoxim), using insecticide mixture (1:100 mixture of deltamethrin and phoxim) and deltamethrin adding synergist (SV₁). Before generation F₁₆ (F₁₇), the development of resistance to deltamethrin and selecting insecticides was relatively slow in all three strains; but after that, the rate of development increased, especially that of the deltamethrin + SV₁-selected strain to deltamethrin. The changes of susceptibility to deltamethrin were correlated with the selection pressure. Biochemical studies showed that, the changes of enzyme activities or properties of esterase, carboxylesterase, mixed-function oxidase, glutathione-S-transferase and acetylcholinesterase were responsible for the changes of susceptibility in the resistant housefly.

Key words housefly, resistance, deltamethrin, changes of susceptibility, insecticide application